



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42554 (13) A

(51) 7 C07D473/04, C07D473/06,
A61K031/52МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ 7-ЗАМІЩЕНИХ 3-МЕТИЛ-8-(ПІПЕРАЗИНІЛ-1) КСАНТИНІВ, ЩО МАЮТЬ АНТИАНАФІЛАКТИЧНУ АКТИВНІСТЬ

(21) 2001042196

(22) 03 04 2001

(24) 15 10 2001

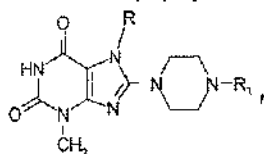
(33) UA

(46) 15 10 2001, Бюл. № 9, 2001 р.

(72) Федулова Ірина Валеріївна, Романенко Микола Іванович, Гладкова Людмила Валер'янівна

(73) Федулова Ірина Валеріївна, UA

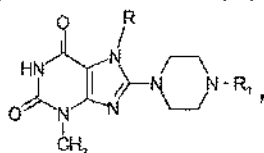
(57) Спосіб отримання 7-заміщених 3-метил-8-(піперазиніл-1) ксантинів, що мають антианафлактотичну активність спільної формули



де R - алкіл (C₁-C₁₈), що може бути з ланцюгом або розгалуженим ланцюгом, гідроксиалкіл або дигідроксиалкіл (C₂, C₃), алкілокси або арилоксиалкіл (алкіл - C₁-C₅, в арилі можуть бути замісники в орто-, мета-, пара-положеннях - галогени, метил-, етил-, метилокси-, етилокси-, гідрокси-, нітрогру-

па), арил(гетарил-)алкіл (алкіл - C₁-C₅, в арилі можуть бути замісники в орто-, мета-, пара-положеннях - галогени, метил-, етил-, метилокси-, етилокси-, гідрокси-, нітрогрупа, гетарил - піперидиніл-1, морфолініл-4, піперазиніл-1, піролідиніл-1), карбамоїлметил, 2-оксопропіл-1, 2-оксо-2-арилетил- (в арилі можуть бути замісники в орто-, мета-, пара-положеннях - галогени, метил-, етил-, метилокси-, етилокси-, гідрокси-, нітрогрупа), R₁ - піперазиніл-1 або 4-(алкіл-, арил-, ариалкіл-, гідроксиалкіл)піперазиніл-1 (алкіл - C₁, C₂), що полягає в нагріванні 7-заміщених 8-бром-3-метилксантинів з піперазином або його N-заміщеними похідними в суміші вода-діоксан, наступним випаровуванням реакційної суміші досуха і переосадженням сухого залишку, який відрізняється тим, що як розчинник використовують суміш вода-діоксан (1:1), зменшують об'єм розчинника (30 мл на 0,01 моль вихідної речовини) і скорочують час нагрівання реакційної суміші (2 год), очищують сполуки методом переосадження (HCl концентрована, 10% водяний розчин NaOH)

Винахід відноситься до медицини, а саме до способу отримання 7-заміщених 3-метил-8-(піперазиніл-1)ксантинів спільної формули



де R - алкіл (C₁-C₁₈), що може бути з ланцюгом або розгалуженим ланцюгом, гідроксиалкіл або дигідроксиалкіл (C₂, C₃), алкілокси або арилоксиалкіл (алкіл - C₁-C₅, в арилі можуть бути замісники в орто-, мета-, пара-положеннях - галогени, метил-, етил-, метилокси-, етилокси-, гідрокси-, нітрогрупа), арил(гетарил-)алкіл (алкіл - C₁-C₅, в арилі можуть бути замісники в орто-, мета-, пара-положеннях - галогени, метил-, етил-, метилокси-, етилокси-, гідрокси-, нітрогрупа, гетарил - піперидиніл-1, морфолініл-4, піперазиніл-1, піролідиніл-1), карбамоїлметил, 2-оксопропіл-1, 2-оксо-2-арилетил- (в арилі можуть бути замісники в орто-,

мета-, пара-положеннях - галогени, метил-, етил-, метилокси-, етилокси-, гідрокси-, нітрогрупа), R₁ - піперазиніл-1 або 4-(алкіл-, арил-, ариалкіл-, гідроксиалкіл)піперазиніл-1 (алкіл - C₁, C₂)

7-Заміщені 3-метил-8-(піперазиніл-1)ксантини є малотоксичними або практично нетоксичними речовинами і мають антианафлактотичну активність. На основі цих речовин можуть бути створені нові вітчизняні оригінальні лікарські препарати.

За останні десятиліття спостерігається неухильне зростання поширення алергічних захворювань [3, 10, 11], що пояснюється погіршенням стану зовнішнього середовища, збільшенням числа інфекційних захворювань і пов'язаним із ним зростанням споживання лікарських препаратів. Причому найбільша патологія, що часто зустрічається - медикаментозна алергія. Таким чином, алергічні захворювання - важлива проблема медицини. Одним з шляхів рішення цієї проблеми є створення нових високоефективних протиалергічних лікарських препаратів [7]. Тим більше, що у літературі є свідчення про протиалергічну активність 7-аміноалкіл- і 8-амінопохідних теофіліну [5, 6, 13].

(13) A

(11) 42554

(19) UA

Відомий аналогічний спосіб одержання пірохлориду 3-метил-8-(піперазиніл-1)ксантину, що виявляє іпотензивну, діуретичну і нейротропну активність [2]. Ця сполука отримана нагріванням 8-бром-3-метил-7-фенацилксантину з триразовим надлишком піперазина гексагідрата в ДМФА протягом 4 годин і наступним розведенням реакційної суміші водою, фільтруванням осаду, що виділяється. Загальними ознаками для аналога і способу, що пропонується, є

- 1) у якості вихідної сполуки використовують 7-заміщені 8-бром-3-метилксантини,
- 2) співвідношення 7-заміщеного 8-бром-ксантина і аміна - 1:3,
- 3) очищення здійснюють методом переосадження.

До недоліків аналога можна віднести

1) у якості розчинника використовують ДМФА, тому в результаті реакції утворюються побічні продукти,

2) у реакції використовують велику кількість розчинника, що збільшує вартість продукту,

3) нагрівання реакційної суміші протікає 4 години, хоча реакція протікає швидше,

4) для очищення продукту реакції використовують дорогі органічні розчинники.

Найбільш близьким за технічним змістом і результатами є спосіб одержання нікотината 3-метил-7-пропіл-8-(піперазиніл-1)ксантину, що має діуретичну дію [1]. Даний спосіб полягає у нагріванні 8-бром-3-метил-7-пропілксантину з гексагідратом піперазину у воді з наступним охолодженням і фільтруванням осаду, що випадає. Загальні ознаки прототипу і способу, що пропонується, є

1) у якості вихідної сполуки використовуються 7-заміщені 8-бром-3-метилксантини,

2) співвідношення вихідної сполуки і аміна - 1:3,

3) у якості розчинника використовують воду.

Недоліками прототипу є

1) використання в якості розчинника тільки води, тому що не всі 7-заміщені похідні 8-бромксантинів розчиняються у воді,

2) великий об'єм розчинника, що пояснюється важкою розчинністю вихідних речовин у воді,

3) нагрівання реакційної суміші протягом 4 годин.

Метою даного винаходу є - пошук нових високоефективних та менш токсичних протипалісних лікарських засобів.

У основу винаходу поставлена задача удосконалити одержання 7-заміщених 3-метил-8-(піперазиніл-1)ксантинів, вивчити їхню токсичність і антианафілактичну активність. Поставлена задача вирішується тим, що в способі, що полягає в нагріванні 7-заміщених 8-бром-3-метилксантинів із піперазином або його N-заміщеними похідними в суміші вода-діоксан, наступним розпарюванням реакційної суміші досуха і переосадженням сухого залишку, новим є те, що

1) у якості розчинника використовують суміш вода-діоксан (1:1),

2) зменшують об'єм реакційної суміші за рахунок зменшення кількості розчинника (30 мл на 0,01 моля вихідної речовини),

3) скорочують час нагрівання реакційної суміші,

4) очищення продуктів здійснюють методом переосадження (HCl концентрована, 10% водяний розчин NaOH).

Це дає такі переваги

1) використання в якості розчинника суміші вода-діоксан дозволяє одержати різноманітні 8-(піперазиніл-1)ксантини, тому що не всі 7-заміщені 8-бром-3-метилксантини розчиняються у воді,

2) запропонований розчинник дозволяє зменшити об'єм реакційної суміші,

3) збільшується концентрація реагуючих сполук, а, отже, збільшується швидкість реакції і скорочується час нагрівання реакційної суміші,

4) використання переосадження для очищення речовин дозволяє зменшити вартість одержуваних сполук.

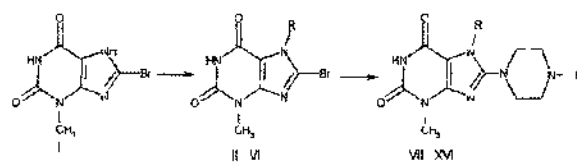
Крім того, у 7-заміщених 3-метил-8-(піперазиніл-1)ксантинів виявлена нова фармакологічна властивість - здатність чинити антианафілактичну дію. Виявлено, що дані речовини менш токсичні в порівнянні з аналогом, прототипом та еталоном порівняння.

Спосіб одержання 7-заміщених 3-метил-8-(піперазиніл-1)ксантинів здійснюється таким чином.

Приклад 1

Постадійний синтез сполук, що описуються

Схема



А Синтез 7-заміщених похідних 8-бром-3-метилксантину (II-VI)

Суміш 2,45 г (0,01 моль) 8-бром-3-метилксантину (I), 0,84 г (0,01 моль) NaHCO_3 , хлор-ацетаміду (III), 2-хлоретилметилового ефіру (IV), 2-метил-3-хлоропропену-1 (V), 30 мл ДМФА кип'ятять 1 годину, реакційну суміш охолоджують, розбавляють водою, осад фільтрують, промивають водою, сушать. Кристалізують з ДМФА (III) або діоксану (IV, V).

8-Бромтеобромін (II) та 7-бензил-8-бром-3-метилксантин (VI) описані в [8, 14].

Б Синтез 7-заміщених 3-метил-8-(піперазиніл-1)ксантинів (VII-XVI)

Суміш 0,01 моль 7-заміщених 8-бром-3-метилксантинів (II-VI), 0,03 моль піперазину (гексагідрата піперазину) (VII-XI) або 0,03 моль N-метилпіперазину (XII-XVI), 15 мл води, 15 мл діоксана кип'ятять 2 години, випаровують у вакуумі досуха, до залишку додають 20 мл води, концентрованої хлористоводородної кислоти до pH - 5, розчин фільтрують, фільтрат нейтралізують 10% водяним розчином NaOH до зміни забарвлення фенолфталеїну, осад відфільтровують, промивають водою, сушать.

Фізико-хімічні властивості отриманих сполук приведені в табл. 1. ПМР-спектри зняті на спектрометрі «Bruker» Ac-200 (200, 13 МГц), розчинник DMSO-d_6 , внутрішній стандарт TMC (табл. 2).

Приклад 2

Біологічна активність 7-заміщених 8-(піперазиніл-1)ксантинів

А Вивчення гострої токсичності синтезованих сполук

Гостру токсичність (LD_{50}) синтезованих сполук і еталона порівняння теофіліну ("ICN") визначали по методу Прозоровського В.Б. [9] у дослідах на безпородних щурах масою 180-200 г. Сполуки вводилися внутрішньочеревно (теофілін - внутрішньочеревно і внутрішньошлунково) у вигляді водяного розчину або тонкої водяної суспензії, стабілізованої твіном-80. Спостереження за тваринами проводили протягом 14 діб після однократного уведення речовини. Про токсичну дію сполук судили по стану тварин та їх виживанню.

Результати проведених досліджень подані в табл. 3.

Відповідно до класифікації К.К. Сидорова [12] теофілін і речовина VIII (при внутрішньочеревному уведенні) відносяться до групи менш токсичних речовин, речовини IX, XII, XIII, XIV - до групи практично нетоксичних речовин. Причому теофілін у 4-15 разів більш токсичний, ніж досліджувані сполуки.

Крім того, була вивчена гостра токсичність речовин при пероральному уведенні. Досліди проводилися на безпородних щурах масою 200-220 г. Були відібрані 6 груп тварин по 12 щурів (6 самців і 6 самок). Перша група - інтактні тварини, що одержували однократно ізотонічний розчин. Тваринам 2-6 груп вводили перорально речовини VIII, IX, XII, XIII, XIV у дозі 10 мг/кг. За тваринами спостерігали 14 діб. Про токсичну дію препаратів судили по стану тварин і їх виживанню.

Проведені дослідження показали, що при уведенні досліджуваних речовин перорально в зазначеній дозі загибелі тварин не спостерігалось. Протягом усього строку спостереження тварини почували себе добре, ознаки інтоксикації і зміни в поведінці були відсутні. Результати досліджень дозволяють віднести сполуки VIII, IX, XII, XIII, XIV до групи малотоксичних речовин по класифікації К.К. Сидорова. Причому, теофілін більш ніж у 14 разів токсичний досліджуваних речовин при внутрішньошлунковому уведенні.

Б Вивчення антианафілактичної активності синтезованих сполук

Антианафілактичну або протиалергічну активність сполук VIII, IX, XII, XIII, XIV вивчали на морських свинках масою тіла 250-300 г. Для експерименту були відібрані 10 груп тварин по 10 свинок у кожній групі. Для відтворення алергічних реакцій анафілактичного або "негайного" типу тварин сенсibilізували нормальною конячою сироваткою (НКС) [4]. Для відтворення анафілактичного шоку на 21 день тваринам внутрішньосердечно вводили вирішуючу дозу НКС. Після чого враховували інтенсивність анафілактичного шоку по 4-бальній системі.

1 бал - короткочасне почухування носа, "скуповдження" шерсті,

2 бали - чітко виражені часті почухування, одиничні чихання, спад температури тіла,

3 бали - спастичний кашель, бічне положення тварини, виділення кала і сечі,

4 бали - спазм дихальних шляхів, конвульсивні стрибки, судороги, тварина гине (як правило на 5 хвилин).

Оцінювання результатів проводили диференціальним способом урахування, підраховуючи анафілактичний індекс за розподілом тварин у % до їхнього загального числа:

$$\text{анафілактичний індекс} = (a+2b+3c+4d)/100,$$

де a, b, c, d - кількість тварин у % до їхнього загального числа, що виявили прояви анафілактичного шоку інтенсивністю відповідно 1, 2, 3 і 4 бала.

Лікування тварин сполуками починали через 7 діб після сенсibilізації. Проводили його протягом 2-х тижнів шляхом щоденного уведення речовин перорально в дозі 10 мг/кг. Позитивним контролем служили сенсibilізовані морські свинки ("неліковані"), негативним контролем - інтактні морські свинки, яким вводили воду. У якості препарату порівняння використовували субстанцію теофіліну в дозі 30 мг/кг.

Ефект дії досліджуваної сполуки і препарату порівняння розраховували за формулою:

$$\text{ефект} = (\Delta_k - \Delta_d) / \Delta_k \cdot 100\%,$$

де Δ_k і Δ_d - різниця між показниками в контрольній і дослідній групах відносно інтактних тварин.

Результати проведених досліджень подані в табл. 4.

З даних, приведених у табл. 4, очевидно, що у нелікованих тварин інтенсивність анафілактичного шоку досягає 100%. А вивчені 7-заміщені 3-метил-8-(піперазиніл-1)ксантини (VIII, IX, XII, XIII, XIV) виявляють антианафілактичну активність ефективною від 12,5% до 100%.

Таким чином, вивчені 7-заміщені 3-метил-8-(піперазиніл-1)ксантини, володіють антианафілактичною активністю, також як і еталон порівняння теофілін. Та вони значно менше токсичні сполуки і можуть знайти застосування у фармації в якості нових лікарських препаратів.

Джерела інформації

1 А.с. 1807890 СССР, МКИ С07D473/08, А61K031/52. Никотинат 3-метил-7-пропил-8-N-піперазиноксантина, проявляющий диуретическое действие / Романенко Н.И., Сериков В.И., Линенко В.И. и др. - 4918296/04, заявл. 11.02.1991.

2 А.с. 889287 СССР, МКИ С07D473/06, А61K031/52. Гидрохлорид 7-фенацил-8-N-піперазино-3-метилксантина, проявляющий гипотензивную, диуретическую и нейролептическую активность / Прийменко Б.А., Гармаш С.Н., Самура Б.А. и др. - 2930419/23-04, заявл. 23.05.1980.

3 Аллергические болезни у детей. Руководство для врачей / Под ред. М.Я. Студеникина, И.И. Балаболкина - М. Медицина, 1998 - 352 с.

4 Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований / Под ред. И.В. Лазарева - Л. Медгиз, 1954 - 395 с.

5 Глушков Р.Г., Овчарова И.М., Коптенкова В.А. и др. // Хим.-фарм. журн. - 1987 - Т. 21, № 1 - С. 55-59.

6 Глушков Р.Г., Овчарова И.М., Никитин В.Б. и др. // Хим.-фарм. журн. - 1989 - Т. 23, № 10 - С. 1235-1237.

7 Гуцин И.С., Сараф А.С. // Хим.-фарм. журн. - 1992 - Т. 26, № 4 - С. 4-20.

8 Прийменко Б.А., Романенко Н.И., Ключев Н.А. и др. // Химия гетероцикл. соединений - 1984 - № 8 - С. 1129-1132.

9 Прозоровский В Б, Прозоровская М П, Демченко В М // Фармакол и токсикол - 1978 - Т 41, № 4 - С 497-502

10 Пухлик Б М, Бондарчук О Б, Корицька І В та ін // Укр пульманолопчн журн - 1993 № 1 - С 11-15

11 Пыцкий В И и др Аллергические заболевания - 3-е изд, перераб и доп - М Изд-во "Триада-Х", 1999 - 470 с

12 Сидоров К К // Токсикология новых промышленных химических веществ - 1973 Вып 13 - С 43-51

13 Abou-Gharbia M, Moyer J A, Nielsen S T et al // J Med Chem - 1995 - V 38, № 20 - P 4026-4036

14 Eckstein M, Gorczyca M, Zeic A // Acta Pharm Jugoslav - 1972 - V 22 - P 133-135

Таблица 1

Характеристики синтезованих сполук

Сполука	R	R ₁	Вихід, %	Т пл, °C	Знайдено, %			Брутто-формула	Розраховано, %		
					C	H	N		C	H	N
III	-CH ₂ C(O)NH ₂		87	>300	32,02	2,31	23,46	C ₈ H ₈ BrN ₅ O ₃	31,81	2,67	23,18
IV	-CH ₂ CH ₂ OCH ₃		75	221-223	35,78	3,45	18,76	C ₉ H ₁₁ BrN ₄ O ₃	35,66	3,66	18,48
V	-CH ₂ C(CH ₃)=CH ₂		83	228-230	40,64	3,98	18,28	C ₁₀ H ₁₁ BrN ₄ O ₂	40,15	3,71	18,73
VII	-CH ₃	H	75	246-249	49,32	5,82	32,03	C ₁₁ H ₁₈ N ₆ O ₂	49,99	6,10	31,80
VIII	-CH ₂ C(O)NH ₂	H	79	289-290	46,56	5,77	32,24	C ₁₂ H ₁₇ N ₇ O ₃	46,90	5,58	31,90
IX	-CH ₂ CH ₂ OCH ₃	H	70	189-190	50,95	6,30	27,59	C ₁₃ H ₂₀ N ₆ O ₃	50,64	6,54	27,26
X	-CH ₂ C(CH ₃)=CH ₂	H	69	240-241	54,86	6,93	27,33	C ₁₄ H ₂₀ N ₆ O ₂	55,25	6,62	27,61
XI	-CH ₂ C ₆ H ₅	H	77	226-228	59,74	6,18	24,29	C ₁₇ H ₂₀ N ₆ O ₂	58,99	5,92	24,69
XII	-CH ₃	CH ₃	79	235-237	51,38	6,93	30,10	C ₁₂ H ₁₈ N ₆ O ₂	51,79	6,52	30,20
XIII	-CH ₂ C(O)NH ₂	CH ₃	78	297-299	48,74	5,62	30,91	C ₁₃ H ₁₉ N ₇ O ₃	48,59	5,96	30,51
XIV	-CH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₃	72	203-204	51,85	7,12	25,88	C ₁₄ H ₂₂ N ₆ O ₃	52,16	6,88	26,07
XV	-CH ₂ C(CH ₃)=CH ₂	CH ₃	73	215-216	56,14	7,28	26,09	C ₁₅ H ₂₂ N ₆ O ₂	56,59	6,97	26,40
XVI	-CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	79	211-212	61,48	5,94	24,01	C ₁₈ H ₂₂ N ₆ O ₂	61,00	6,26	23,71

Таблица 2

ПМР-спектри синтезованих сполук

Сполука	Хімічні зрушення протонів, δ-шкала, м ч					
	1NH	7NCH ₂ (CH ₃)	3NCH ₃	NCH ₂ (піперазин)	NCH ₃ (піперазин)	Інші
III	11,30	4,88	3,33			7,73, 7,40 (C(O)-NH ₂)
IV	11,15	4,38	3,33			3,68 (CH ₂ -O), 3,23 (CH ₃ -O)
V	11,18	4,72	3,30			4,80, 4,48 (CH ₂ =C), 1,72 (CH ₃ -C=)
VII		3,65	3,30	3,15, 2,85		
VIII		4,65	3,30	3,10, 2,78		7,58, 7,23 (C(O)-NH ₂)
IX		4,18	3,31	3,14, 2,84		3,73 (CH ₂ -O), 3,21 (CH ₃ -O)
X		4,61	3,31	3,13, 2,78		4,88, 4,53 (CH ₂ =C), 1,67 (CH ₃ -C=)
XI		5,32	3,37	3,08, 2,78		7,15-7,38 (CH-аром)
XII	10,78	3,62	3,28	3,22, 2,45	2,23	
XIII	10,90	4,63	3,31	3,15, 2,42	2,21	7,63, 7,27 (C(O)NH ₂)
XIV	10,86	4,18	3,31	3,22, 2,45	2,23	3,73 (CH ₂ -O), 3,21 (CH ₃ -O)
XV	10,80	4,63	3,31	3,22, 2,43	2,22	4,88, 4,54 (CH ₂ =C), 1,68 (CH ₃ -C=)
XVI	10,83	5,32	3,37	3,13, 2,35	2,18	7,15-7,35 (CH-аром)

Таблиця 3

Гостра токсичність синтезованих сполук

Сполука	Доза мг/кг	Кількість тварин			ЛД ₅₀ мг/кг
		загальна	загинули	вижили	
Теофілін (в/ш)	200	2	0	2	282(183+372)
	250	2	0	2	
	316	2	2	0	
	398	2	2	0	
Теофілін (в/ч)	126	2	0	2	178(136+230)
	158	2	0	2	
	200	2	2	0	
	250	2	2	0	
VIII (в/ч)	500	2	0	2	708(500+925)
	630	2	0	2	
	790	2	2	0	
	1000	2	2	0	
IX (в/ч)	1000	2	0	2	1410(914+2094)
	1260	2	0	2	
	1580	2	2	0	
	2000	2	2	0	
XII (в/ч)	2000	2	0	2	2820(1829+3717)
	2500	2	0	2	
	3160	2	2	0	
	3980	2	2	0	
XIII (в/ч)	1000	2	0	2	1410(914+2094)
	1260	2	0	2	
	1580	2	2	0	
	2000	2	2	0	
XIV (в/ч)	1000	2	0	2	1290(842+1786)
	1260	2	1	1	
	1580	2	2	0	
	2000	2	2	0	

Таблиця 4

Антианафлактична активність синтезованих сполук

Сполука	Розподіл тварин у % до загального числа				Анафлактичний індекс	Ефект, %
	1 бал	2 бали	3 бали	4 бали		
Інтактні тварини	0	0	0	0	0	-
Неліковані тварини	0	0	0	100	4,0	-
Теофілін	0	0	0	0	0	100
VIII	0	50	20	10	2,0	50
IX	0	0	0	0	0	100
XII	0	0	0	0	0	100
XIII	0	0	50	50	3,5	12,5
XIV	0	10	20	0	0,8	80

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60x84 1/8
Обсяг _____ обл.-вид арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180
(044) 268-25-22